UEBER DIE
BEEINFLUSSUNG DER MILZBRANDSPOREN
DURCH DEN GERBEPROZESS.

INAUGURAL-DISSERTATION

VERFASST UND DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

KGL. BAYER. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT

VON

HERMANN KESSLER

AUS

HESSDORF.

ACAD. LUDD. BAT. BIBL.

WÜRZBURG.

C. J. BECKER'S UNIVERSITÄTS-BUCHDRUCKEREI.

1902.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent: **Herr Prof. Dr. K. B. Lehmann.**

Meinen

Lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet.

I. Einleitung und Veranlassung zur Arbeit.

In den grossen Gerbereien Deutschlands werden vorzugsweise ausländische Häute verarbeitet und es liegen eine Reihe von statistischen Angaben vor, dass solche Häute gelegentlich Milzbrand verbreiten.

So hat *Rembold* (Zeitschrift für Hygiene, Band 7) den Standpunkt vertreten, dass in Württemberg ausserordentlich häufig Milzbrandfälle bei Mensch und Tier auf ausländische Häute zurückzuführen seien. Von den Gerbereien mit Viehhaltung in und um Tuttlingen hatten 85 Prozent Milzbrandfälle zu verzeichnen, von den 252 übrigen Gehöften mit Viehaltung nur 7 Prozent.

Reisswaenger, (Zeitschrift für Hygiene, Band 8) hat *Rembold's* Standpunkt für ganz Württemberg durch statistische Feststellungen als richtig zu erweisen versucht.

Es scheint aber nach Herrn Professor Lehmann nur der Nachweis gelungen, dass Gerbereien in

einer Anzahl württembergischer Orte an der Ausbreitung des Milzbrandes unzweifelhaft schuld sind, für andere Orte scheint *Reisswänger's* Erklärung im Stiche zu lassen.

Auch die Strassburger Dissertation von Richard *Loeb* (1898): Ueber den Milzbrand in Elsass-Lothringen vermochte durchaus keinen auffallenden Zusammenhang zwischen Milzbrand und Gerbereien festzustellen. Immerhin genügen die oben citirten Arbeiten zum Nachweis eines gelegentlichen nicht allzu seltenen Zusammenhanges und es scheint durchaus gerechtfertigt, dass im Falle eines gehäuften Vorkommens von Milzbrand in einem Thal, durch das Abwässer einer grossen Gerberei fliessen, an die Möglichkeit des Zusammenhanges dieser Gerbereien mit den Milzbranderkrankungen gedacht wird.

Herr Professor Lehmann wurde durch ein Gutachten, das er für eine Fabrikstadt abzugeben hatte, gezwungen, sich eingehender mit einer Reihe von Fragen zu beschäftigen, welche sich auf das Verhalten von Milzbrandsporen zu Häuten und zum Gerbereiprozess beziehen. Nachdem derselbe im Frühjahr 1901 unter Verwertung seiner Studien sein Gutachten abgegeben hatte, erschien es ihm wünschenswert, noch einige Specialuntersuchungen ausführen zu lassen, um von ihm studierte Punkte noch weiter zu klären, respektive durch Wiederholung der Versuche zu bestätigen.

Ich übernahm die Ausführung dieser Versuche um so lieber, da die Frage der Milzbrandbekämpf-

ung ein grosses medicinisches und landwirtschaftliches Interesse besitzt.

Die Versuche wurden genau nach einem von Herrn Professor Lehmann gegebenen Schema ausgeführt, bei der Ausführung hatte ich mich der fortgesetzten freundlichen Mithilfe des Herrn Dr. *Kisskalt*, Assistenten am hygienischen Institute zu erfreuen.

II. Kurze Darstellung der Gerbprozesses.

In der in Frage kommenden Stadt wird der Gerbereiprozess in folgender Weise ausgeführt:

Die meist aus Argentinien importirten Häute gelangen vorwiegend in trockenem Zustande zu uns. Sie werden vor allem 4 Tage in Wasser geweicht, dann mindestens 3×24 Stunden in eine gesättigte Ätzkalklösung gebracht, welche als Bodensatz überschüssiges Ätzkalkhydrat enthält. (Kalkmilch). Aus den stickstoffhaltigen Bestandteilen der Haut wird dabei nicht unerheblich Ammoniak gebildet, wodurch die Alkalescenz des Kalkwassers vermehrt wird. Die gekalkten und dabei stark gequollenen Häute werden durch einfache maschinelle Vorrichtungen erst im Groben von Haaren, dann von Fleischteilen befreit, schliesslich werden die Häute von Hand fertig gereinigt, mit frischem Wasser gewaschen und in sehr stark verdünnter Schwefelsäure die Kalkreste aus der Haut entfernt. Die Häute gelangen nun für 2 Monate bis 1 Jahr in allmählich immer stärkere Gerbbrühen, teils Eichenrindeabkochungen, teils Auszüge der amerikanischen Quebracho-Rinde. Die zuletzt ange-

wendeten stärksten Brühen dürften wohl warm gesättigte, ganz concentrirte Gerbsäurelösungen darstellen. Die gegerbten Häute werden in leicht geheizten Räumen getrocknet, wobei sie auf der Rückseite mit etwas Kleister angeklebt, auf der Vorderseite mit Leinöl eingerieben und endlich mit kaltem Eisen glatt gebügelt werden.

III. Arbeitsplan.

Für meine eigentliche Arbeit: „Werden die Milzbrandsporen durch einzelne Phasen des Gerbereiprozesses beeinflusst?“ wurden mir folgende Einzelfragen gestellt:

1. Sterben Milzbrandsporen in absehbarer Zeit ab in:

a) gesättigtem Kalkwasser

b) Kalkescher

c) gesättigte Quebracho-Brühe

2. Verhalten der Milzbrandsporen im Weichwasser. (Findet im Weichwasser in irgend einem Stadium ein vollständiges Auskeimen der Milzbrandsporen und ein vollständiger Übergang derselben in die Bazillenform statt?)

Sollte Frage! 1 und 2 verneint werden, so ergab sich 3.) Die Frage:

Gibt es andere einfache Mittel, um Milzbrandsporen an Häuten zu sterilisiren?

Als Vorarbeit zu den folgenden Untersuchungen galt es, die Milzbrandstämme des Instituts zu untersuchen, um einen ausfindig zu machen, der Sporen von genügender Resistenz lieferte.

Herstellung geeigneter Milzbrandfäden.

Zu meinen Versuchen standen mir aus der Sammlung des hygienischen Institutes folgende Milzbrandstämme zur Verfügung:

Bacillus anthracis, „Königsberg“. Von einem Milzbrandfall aus Königsberg. Schon über 5 Jahre im Institut.

Bacillus anthracis „Prag“ von Kral 2. IX. 99 bezogen.

Bacillus anthracis, von Dr. *Dieudonné*. 29. III. 00 erhalten.

Bacillus anthracis „Kitasato“. Von Kitasato. Berlin. 7. XII. 90 erhalten.

Bacillus anthracis „Fränkel“. Von Professor Fränkel 13. VI. 99 erhalten.

Von diesen war im letzten Jahr nur der Milzbrand „*Dieudonné*“ und einmal der Milzbrand „Prag“ durch Mäuse gegangen.

Um zu untersuchen, welcher von diesen die schönsten Sporen bildete und auf welche Weise, impfte ich dieselben teils auf Agar — 1 %igen und 2 %igen — teils auf Kartoffeln und untersuchte sie nach 1, 2 und 6 Tagen. Es ergab sich folgendes Resultat:

	Agar					Kartoffeln
	1 %ig	1 %ig	1 %ig	2 %ig	2 %ige	
	Nach 6 Tagen	Nach 2 Tagen	Nach 1 Tag	2 Tage alt	1 Tag alt	6 Tage alt
Königsberg	Schlechte Sporen u. Vorstufen.	Vorstufen.	Nur Vorstufen	Vorstufen	Keine Sporen	Gute Sporen
Kitasato	Nur Vorstufen.	Vorstufen.	Keine Sporen	Keine Sporen	Keine Sporen	Vorstufen
Fränkel	Vorstufen u. kl. Sporen.	Keine Sporen.	Sehr wenig mittelgute Sporen viele Vorstufen.	Keine Sporen	Keine Sporen	Gute Sporen
Prag	Vorstufen und sehr wenig gute Sporen.	Keine Sporen.	Sehr wenig gute Sporen.	Vorstufen und schlechte Sporen	Wenig Vorstufen	Mittelgute Sporen
Dieudonné	Prächtige Sporen.	Sehr schöne Sporen.	Schöne Sporen.	Sehr gute Sporen	Prächtige Sporen	Sehr schöne Sporen

Aus nebenstehender Tabelle geht also hervor, dass die schönsten Sporen vom Milzbrandstamm „*Dieudonné*“ gebildet wurden und zwar auf 2 %igem Agar schon nach 24 Stunden, auf 1 %igem Agar Sporen von der gleichen Grösse erst nach 48 Stunden. Die Sporen auf Kartoffeln waren den erst erwähnten gleich; was die übrigen Stämme anbetrifft, so bildeten einige derselben *(Königsberg* und *Fränkel)* auf Kartoffeln nach 6 Tagen noch schöne

Sporen, während sie auf Agar nach derselben Zeit höchstens Vorstufen oder ganz kleine Sporen bildeten. Im Weiteren wurden infolgedessen nur Sporen vom Milzbrandstamm „*Dieudonné*“ verwendet. Sie wurden an sterilisirten Seidenfäden angetrocknet und zwar in der Weise, dass ich dieselben auf einer 48 stündigen Agarkultur herumwälzte, bis sie sicher gründlich mit Sporen imprägnirt waren, dann wurden sie in sterilisirte Petrischalen gebracht und 24 Stunden im Exsiccator aufgehoben. Auf diese Weise stellte ich gleich sämtliche Sporenfäden her, die ich überhaupt während meiner Arbeit gebrauchte.

Die Widerstandsfähigkeit der Sporen wurde auf folgende Weise geprüft: Ich warf 26 Sporenfäden in ein Becherglas mit kochendem Wasser und nahm nach 1, 2, 3, 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 17, 18, 20 Minuten je 2 Sporenfäden heraus und legte sie auf in Petrischalen ausgegossenen Agar. Nach 24 Stunden waren nur an den Seidenfäden, die eine und drei Minuten gekocht worden waren, Milzbrandkolonien zu erkennen, an den übrigen Seidenfäden war auch nach 48 Stunden und nach 3 Tagen noch nichts gewachsen, auch nicht an den 2 Minuten gekochten Seidenfäden. Um zu entscheiden ob sich von diesen letztgenannten vielleicht die Sporen während des Kochens abgelöst hätten, fertigte ich ein mikroskopisches Präparat davon an und fand in demselben unzweifelhafte Sporen vor. Das Resultat der Untersuchung war also, dass die Milzbrandsporen, mit denen die nachfolgenden Untersuchungen vorgenommen werden sollten, bis zu

3 Minuten langes Kochen aushielten, was man als eine mittlere, keineswegs extreme Widerstandsfähigkeit bezeichnen kann.

V. Widerstandsfähigkeit von Milzbrandsporen gegen gesättigtes Kalkwasser, Kalkescher und Quebrachobrühe.

Zunächst untersuchte ich nun die in der Gerberei gewöhnlich angewendeten Mittel auf ihre sporentötende Wirkung. Von solchen kommen, wie erwähnt Kalkescher und Quebracho-Brühe in Betracht. Da der Kalkescher eine Mischung von gesättigter Ätzkalklösung und Ammoniak ist, wurde auch die sporentötende Wirkung des Ätzkalkes allein untersucht.

Versuch 1 a.

Verhalten von Milzbrandsporen in gesättigtem Kalkwasser.

Behufs dieses Versuches brachte ich 40 Milzbrandsporenfäden in eine concentrirte Ätzkalklösung und bewahrte sie bei Zimmertemperatur auf. Nach 24 Stunden, 48 Stunden, 3 Tagen bis zu 19 Tagen wurden je 2 Fäden herausgenommen und in ganz dünner Säure (1 Tropfen Salzsäure auf eine Petrischale von Wasser) dann nochmals in destillirtem Wasser abgespült, hierauf auf eine Petrischale von Agar gelegt und in den Brutschrank gebracht.

Wenn nach 3 Tagen nichts gewachsen war, so wurde angenommen, dass die Sporen abgetötet waren. Die Versuche ergaben folgendes Resultat: An den beiden Fäden die einen Tag in der Ätzkalklösung gelegen, dann herausgenommen und in

der eben geschilderten Weise behandelt wurden, zeigte sich nach 24 Stunden üppiges Wachstum von Milzbrand. Bei den Sporenfäden, die nach 2, 3 und 4 Tagen herausgenommen wurden, war nach 24 Stunden der ganzen Länge der beiden Fäden nach Milzbrand gewachsen, bei den Fäden die nach 5 Tagen herausgenommen wurden, zeigte sich nach 24 Stunden schwaches, nach 48 Stunden kräftiges Wachstum. Nach 6 Tagen nahm ich wieder 2 Sporenfäden heraus, an einem dieser beiden Fäden war 24 Stunden nachher nichts gewachsen, am anderen Faden über die Hälfte der Platte Bazillen ans der Gruppe der Heubazillen. Die Fäden die nach 7 Tagen herausgenommen wurden, waren beide nach 24 Stunden mit Milzbrand überwuchert, bei den nach 8 Tagen herausgenommenen Fäden war nach 24 Stunden auf einem Faden nichts gewachsen, am zweiten Faden zeigte sich hingegen an 3 Stellen kräftiges Wachstum. An den Fäden, die nach 9, 10, 11 und 12 Tagen herausgenommen wurden, wuchs nichts mehr. Ich setzte den Versuch noch fort, nahm auch nach 13 Tagen 2 Fäden heraus, bei diesen zeigte sich 24 Stunden und 48 Stunden später noch kein Wachstum, erst nach 3 Tagen zeigte sich von mehreren Stellen des einen Fadens aus üppiges Wachstum von Milzbrand.

Nach 16 Tagen wurden nun wieder 2 Fäden herausgenenommen. Nach 24 Stunden war an einem Faden an einer Stelle Milzbrand gewachsen, am anderen eine Kolonie eines sporentragenden Stäbchens, die vielleicht Milzbrand verdecken könnte.

Es war sehr auffallend, dass nach 17 Tagen noch etwas wachsen sollte, währen vom 9.—12. Tage nichts mehr gewachsen war. Es war sehr leicht möglich, dass hier ein Versuchsfehler vorlag. Um zu untersuchen, wo dieser läge, prüfte ich zunächst die Alkalescenz. Denn es war immerhin möglich, dass der Ätzkalk nicht vollständig in der dünnen Salzsäurelösung neutralisirt war. Ich nahm deshalb einen weiteren Sporenfaden aus der Salzsäurelösung heraus, liess ihn trocknen und legte die Hälfte auf angefeuchtetes blaues, die andere Hälfte auf rotes Lakmuspapier. Das blaue Lakmuspapier wurde nicht verändert, das rote Lakmuspapier an der Stelle, wo der Faden lag, blau gefärbt. Also war der Ätzkalk noch nicht neutralisirt und hatte infolgedessen Entwicklungshemmung der Sporen auf dem Agar bedingt. Von wie grosser Bedeutung dies war, geht nicht nur aus dieser Versuchsreihe, sondern ganz besonders aus der mit Kalkescher hervor. Ich nahm deshalb in Zukunft eine etwas stärkere Salzsäurelösung (4 Tropfen auf eine Petrischale Wasser und liess die Fäden etwas länger darin. Das Resultat entsprach den Erwartungen; bei den nach 17 Tagen aus der Ätzkalklösung herausgenommen Fäden zeigte sich nach 24 Stunden üppiges Wachstum von Milzbrand, bei den nach 18 Tagen herausgenommen Fäden war nach 24 Stunden, nach 2 und 3 Tagen kein Milzbrand gewachsen. Nach 19 Tagen nahm ich nochmals 2 Sporenfäden heraus, das Resultat war auch diesmal ein negatives.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen, dass meine Milzbrandsporen der Einwirkung einer concentrirten Ätzkalklösung 17 Tage zu widerstehen vermochten — möglicher Weise hätte ich, wenn nicht am 19. Tage mein Sporenvorrat erschöpft gewesen wäre, in einzelnen Fällen eine noch längere Lebensdauer gefunden.

Versuch 1 b.

Die nächste Versuchsreihe erstreckte sich auf die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen gegen den Kalkescher. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

Es wurden 34 Sporenfäden in Kalkescher gebracht und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 1, 2, 3 bis zu 12 Tagen nahm ich je 2 Sporenfäden heraus und spülte sie in ganz dünner Säure, (1 Tropfen Salzsäure auf eine Petrischale Wasser) dann nochmals in destillirtem Wasser ab, hierauf legte ich sie auf eine Petrischale von Agar und brachte sie in den Brutschrank. Nach 24 Stunden wurden die ersten Sporenfäden herausgenommen. Auf der Agarplatte zeigte sich nach 24 Stunden der ganzen Länge der beiden Fäden nach üppiges Wachstum von Milzbrand. Bei den nach 48 Stunden herausgenommenen Fäden zeigte sich nach 1, 2 und 3 Tagen kein Wachstum. Auf den Fäden, die ich nach 3 Tagen herausnahm, war nach 24 Stunden der Länge der beiden Fäden nach Milzbrand gewachsen. An den vom 4.—7. Tag herausgenommen Fäden zeigte sich nach 1, 2 und 3tägiger Beobachtung kein Wachstum. Ich setzte meine Versuche

weiter fort und nahm nach 8 Tagen wieder 2 Fäden heraus. Da nach 24 Stunden über die Hälfte der der Platte weg von einem Faden ausgehend eine grosse Kolonie sporentragender Stäbchen gewachsen war, vor der vorhandener Milzbrand nicht hätte erkannt werden können, wurden die beiden Fäden, sowie der nächstliegende Teil der Kolonie einer Maus subcutan beigebracht. Die Maus blieb am Leben nach einer Beobachtungsdauer von 8 Tagen.

Von hier an wurde die Salzsäure behufs vollständiger Neutralisirung viermal stärker genommen (Vergleiche Versuchsreihe mit Ätzkalk).

Nach 9 Tagen nahm ich 2 Fäden heraus, 24 Stunden später zeigte sich an beiden Fäden üppiges Wachstum von Milzbrand.

Nach 10 Tagen nahm ich wieder 2 Fäden heraus. Nach 24 Stunden war in der Mitte des einen Fadens Milzbrand gewachsen, am anderen Faden nicht. Am folgenden Tage war der eine Faden vollständig überwuchert, am andern Faden noch nichts gewachsen.

Auf den Fäden, die nach 11 Tagen herausgenommen wurden, war nach 24 Stunden nichts gewachsen, desgleichen nicht nach 48 Stunden und 3 mal 24 Stunden.

Ich nahm nun noch nach 12 Tagen 2 Fäden heraus, doch auch hier ergab sich ein negatives Resultat.

Es folgt also daraus, dass unsere Milzbrandsporen nach 11 tägigem Aufenthalt in Kalkescher abgetötet waren. Selbstverständlich ist es nicht

ausgeschlossen, dass es noch widerstandsfähigere Milzbrandsporen geben könnte, die noch etwas längeres Verweilen in Kalkescher vertragen können. Es ist deshalb in praxi nicht möglich, den Kalkescher als sicheres Desinfektionsmittel bei der Gerberei zu bezeichnen.

Versuch 1 b.

Als weiteres Medium, das bei dem Gerbereiprozess noch sprentötend wirken könnte, kam die Quebracho-Brühe in Betracht. Die Versuche mit derselben wurden in ähnlicher Weise wie die beiden vorigen angestellt. Ich brachte auch hier wieder Sporenfäden in die Quebracho-Brühe und bewahrte sie bei Zimmertemperatur auf. Nach 1, 2 bis zu 12 Tagen nahm ich Fäden heraus, brachte sie auf Nährböden und beobachtete sie 3 Tage lang. Nach 24 Stunden wurden die ersten Fäden herausgenommen und auf Agar gebracht. Nach 24stündiger Beobachtung zeigte sich kein Wachstum, die Umgebung der Seidenfäden war gebräunt; es schien als ob die Quebracho-Brühe entwicklungshemmend wirkte, vermutlich durch den Gehalt an Gerbstoffen bedingt. Um diesen wenigstens grösstenteils auszuschalten und die Gerbstoffe zu lösen, legte ich die Sporenfäden zunächst 5 Minuten in 10%igen Alkohol, spülte diesen in reinem Wasser ab und legte sie dann auf Agar.

Auf den Fäden, die nach 48 Stunden herausgenommen und auf die soeben angegebene Weise behandelt wurden, zeigte sich nach 24 Stunden üppiges Wachstum von Milzbrand.

Bei den in den folgenden Tagen herausgenommen Fäden war nach mehrtägiger Beobachtung kein Wachstum von Milzbrand wahrzunehmen, dagegen war verschiedentlich die ganze Oberfläche des Agar teils mit kurzen, teils mit langen Stäbchen überwachsen. Es schienen trotz der Auswaschungen in Alkohol noch nicht alle Bestandteile der Gerbsäure von den Fäden entfernt zu sein; denn der Agar in der Umgebung der Fäden wurde immer noch braun. Ich brachte deshalb die Sporenfäden nicht mehr auf Agar sondern in Bouillon, wo sie ja sicher wegen der längeren Dauer des Verweilens noch gründlicher ausgewaschen wurden. Als Resultat ergab sich, wie aus folgendem ersichtlich, dass von Neuem Milzbrand wuchs.

Die Fäden, die ich nach 9 und 10 Tagen herausnahm und in Bouillon brachte, zeigten schon nach 24 Stunden schönes Wachstum von Milzbrand, auch bei den nach 11 und 12 Tagen entnommenen Fäden wuchs nach 24 Stunden noch Milzbrand. Unter den überwucherten Keimen hatte ich verschiedene Male Kurzstäbchen gefunden, die anscheinend sporenlos waren. Dies brachte mich auf den Gedanken, dass die Quebracho-Brühe vielleicht nicht einmal imstande sei, sporenfreie Bakterien zu töten. Um dies zu untersuchen, stellte ich folgende Versuche an:

Ich sterilisirte Quebracho-Brühe im Dampftopf und füllte je 5 ccm davon in Reagenzgläser ab und inficirte dieselbe mit 24stündigen Kulturen von Mikrokokkus roseus,

Bakterium pyaacyaneum,
Bakterium coli,
Bakterium prodigiosum.

Nach 24 Stunden goss ich mit je 2 Ösen Agarplatten und stellte dieselben in den Brutschrank mit 22 respektive 37 °.

Nach 24 Stunden zeigte sich noch kein Wachstum, auch nicht nach 48 Stunden und nicht nach 3 Tagen.

Es werden also nach diesen Versuchen zwar sporenlose Bakterien in kurzer Zeit, dagegen Milzbrandsporen noch nicht nach 12 Tagen getötet.

VI. Giebt es ein Stadium, in welchem alle Milzbrandsporen die an einer geweichten Haut sitzen, zu sporenlosen Fäden ausgewachsen sind?

Was die praktische Anwendung von Milzbrand tötenden Mitteln im Gerbereiprozess betrifft, so wäre es wohl am einfachsten, wenn wir nicht die so widerstandsfähigen Sporen, sondern nur die vegetativen Formen des Milzbrandbazillus zu töten hätten. Dies wäre theoretisch möglich, wenn wir alle Milzbrandsporen gleichzeitig in geeigneter Flüssigkeit zum Auskeimen bringen könnten. Da es aber schon wegen der Unsicherheit dieser Thatsache und ganz besonders wegen der grossen Seltenheit des Vorkommens des Milzbrandes in den Fabriken unthunlich wäre, irgend eine Nährlösung für Bakterien zwischen die übliche Behandlung der Häute einzuschieben, so muss man sich damit begnügen, zu sehen ob sich bei dem gewöhnlichen Gerbereiprozess zu irgend einer Zeit die Häute

in einer Lösung befinden, die genügenden Nährwert hat, dass die Milzbrandsporen auskeimen können. Dies ist in der That am Anfang der Behandlung der Fall, nämlich, wenn die Häute in Wasser eingeweicht werden. Keimen zu dieser Zeit die Milzbrandsporen aus und werden die Häute, ehe sich neue Sporen gebildet haben in eine (im bakteriologischen Sinn) antiseptische Lösung gebracht, so wäre eine Abtötung des Milzbrands leicht möglich.

Versuch II.

Ich suchte deshalb diese Verhältnisse in folgender Weise nachzuahmen: Ich legte Hautstücke und zwar teils von Salzhaut, teils von trockener Haut, gesondert in ein Becherglas voll Wasser, hob sie teils bei 22^0 teils bei 37^0 auf und brachte einige Milzbrandsporenfäden, die ich in Gazesäckchen gelegt hatte, mit hinein. Nach 7, 16 und 24 Stunden nahm ich Sporenfäden heraus und brachte sie 1 Minute in kochendes Wasser, da ja der Vorversuch ergeben hatte, dass die Sporen nach dieser Zeit durch Kochen noch nicht abgetötet wurden.

Der Versuch misslang. Schon durch den Geruch liess sich nach 24 Stunden eine starke Fäulnis in den Gefässen konstatiren und es schien die Befürchtung gerechtfertigt, dass sich unter den vielen Bakterien auch sporentragende saprophytische Bazillen befänden, die die neu anzulegende Kultur verunreinigen könnten. Trotzdem wurden die 1 Minute mit kochendem Wasser behandelten Seidenfäden auf Agar gelegt. Aus den nach 24 Stunden gewachsenen Kulturen liess sich mit Sicherheit

nur bei den 7 und 16 Stunden lang mit der Salzhaut bei 22° und bei den mit der trockenen Haut bei 37° 16 Stunden lang aufgehobenen Fäden unter anderen Bakterien Milzbrand konstatiren. Bei den übrigen war vor lauter sporentragenden Stäbchen keine sichere Diagnose möglich, womit natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass sich auch unter diesen Kolonien Milzbrand befand. Um vor den Verunreinigungen das Nächstemal sicher zu sein widerhollte ich den Versuch mit einigen Abänderungen auf folgende Weise:

Versuch 3.

Ich suchte zunächst die Häute auf eine Weise zu sterilisiren, die denselben nicht schadete und bei der das Desinfektionsmittel wieder leicht entfernt werden konnte. Ich nahm zu diesem Zwecke dünne Formaldehydlösung, brachte nun Hautstücke in Bechergläser, die 1%ige, 2%ige und 5%ige Formaldehydlösung enthielten, schnitt mit einer sterilisirten Schere jeden Tag ein Stückchen von jeder Haut ab und legte diese Stückchen auf Nährböden. Damit das anhaftende Formol keine Entwicklungshemmung hervorrufe, spülte ich sie vorher eine Stunde lang in dünner Ammoniaklösung und, um endlich das Ammoniak gründlich zu entfernen, in Wasser ab.

Der Vorversuch über die Sterilisirung der Häute mit Formol ergab folgendes Resultat:

Bei den Hautstücken, die einen Tag in 1%iger, 2%iger und 5%iger Formollösung gelegen, dann herausgenommen, in der eben erwähnten Weise

behandelt und auf Nährböden, teils auf Agar, teils in Bouillon gebracht wurden, ergab sich nach 24 Stunden folgendes Resultat:

Die Bouillon, in die Salzhautstücke aus 1 %iger und 5 %iger Formollösung gebracht worden waren, zeigte sich getrübt. Um zu sehen ob diese Trübung durch lebende Keime geschah, fertigte ich von jeder Bouillon ein mikroskopisches Präparat an, es konnten jedoch nicht mit Sicherheit Keime erkannt werden, deshalb machte ich Ausstrich auf Agarplatten; diese zeigten sich nach 24 Stunden noch steril. Also waren in der 1 %igen und 5 %igen Formollösung sämtliche Keime auf den Salzhautstücken abgetötet.

Die übrigen Nährböden waren nach 24 Stunden steril, ebenso noch nach 48 Stunden und nach 3 Tagen. Es genügt also eine 1 %ige Formollösung vollständig, um Häute in 24 Stunden zu sterilisiren.

Ich nahm nun die Häute, die in der 1 %igen Formollösung gelegen waren, heraus, legte sie 5 Stunden in schwache Ammoniaklösung, spülte diese wiederum mit sterilisirtem Wasser ab und legte sie nunmehr zusammen mit Milzbrandsporenfäden in 0,6 %ige Kochsalzlösung in ein zugedecktes sterilisirtes Gefäss. Ich nahm 0,6 %ige Kochsalzlösung anstatt Wasser, da doch wahrscheinlich in der Formollösung, mit der die Häute vorher behandelt worden waren, viele Salze extrahirt waren und ich den Verlust ersetzen wollte, um den Versuch den Verhältnissen der Wirklichkeit möglichst ähnlich zu gestalten. Hiezu legte ich die Sporenfäden, die Aufbewahrung geschah bei Zimmertemperatur. Die

Abtötung der vegetativen Formen geschah diesmal nicht in kochendem Wasser, sondern der Einfachheit halber in 5%iger Karbollösung. Es tötet ja bekanntlich schon 3%ige Karbolsäurelösung sporenfreie Milzbrandbazillen binnen 8 Sekunden, während selbst erwärmte 5%ige Karbolsäure Milzbrandsporen erst nach 3 Stunden zu töten vermag.

Der Versuch ergab folgendes Resultat: Nach 7 Stunden nahm ich die ersten Fäden heraus, legte sie 10 Minuten in 5%ige Carbollösung, dann 1 Stunde in Wasser und brachte sie dann auf Agarplatten und bewahrte sie im Brutschrank auf. Nach 24 Stunden war auf den Fäden von der sterilen trockenen Haut Milzbrand gewachsen, auf denen von der sterilen Salzhaut nicht; nach weiteren 24 Stunden war auch auf diesen letzteren Milzbrand gewachsen.

Nach 16 Stunden nahm ich abermals Fäden heraus, behandelte sie in eben geschilderter Weise und brachte sie auf Agar. Nach 24 Stunden zeigte sich auf allen Fäden üppiges Wachstum von Milzbrand.

Nach 24 Stunden nahm ich die dritten Fäden heraus. Tags darauf war auf den Fäden von der sterilen trockenen Haut Milzbrand gewachsen, auf denen von der sterilen Salzhaut nicht, auch nicht noch 2 und 3 Tagen.

Auf den Fäden die nach 48 Stunden herausgenommen wurden, war nach 24 Stunden noch nichts gewachsen auch nicht nach 48 Stunden.

Nach 3 Tagen wurden nochmals Sporenfäden herausgenommen. Am folgenden Tage war auf den

Fäden von der sterilen trockenen Haut Milzbrand gewachsen, auf denen von der sterilen Salzhaut nicht.

Es scheint also, dass manchmal die Sporen nach 24 Stunden sämtlich ausgekeimt sind und nun durch ein Mittel, das nur vegetative Zellen zerstört, der Milzbrand abgetötet werden kann. Doch darf daraus nicht geschlossen werden, dass dies ein für die Praxis anwendbares Verfahren sei; denn es waren immerhin noch bei verschiedenen Häuten nach derselben Zeit Sporen vorhanden, was ja auch mit den neueren Ansichten über das ungleichmässige Auskeimen der Sporen — ungleichmässig in Bezug auf die Zeit — vollständig über einstimmt. (Vergleiche Richard *Weil*, Arch. f. Hygiene Bd. 39. p. 205).

VII. Versuche, Milzbrandsporen mit Formol abzutöten.

Es war schliesslich noch von Interesse zu erfahren, ob schwache Formollösung im Stande wäre, mit Sporen besetzte Häute zu desinficiren, resp. Milzbrandsporen zu töten.

Aus den vorhin angeführten Versuchen hatte sich ergeben, dass Häute in 1 %iger Formollösung schon nach 24 steril sind.

Ich untersuchte deshalb, ob auch meine Milzbrandsporen nach dieser Zeit abgetötet wurden.

Ich legte sie also wieder wie bei anderen Versuchen in 1 %ige, 2 %ige und 5 %ige Formollösungen, spülte sie nach dem Herausnehmen gründlich in verdünntem Ammoniak, dann in sterilisirtem Wasser ab und brachte sie auf Nährböden.

Die Sporenfäden, die nach 24 Stunden aus der 1 %igen, 2 %igen und 5 %igen Formollösung herausgenommen wurden, ebenso die, welche nach 48 Stunden und die, welche nach 3, 4 und 5 mal 24 Stunden herausgenommen wurden, zeigten nach 1, 2 und 3 Tagen kein Wachstum, weder auf Bouillon noch auf Agarnährböden.

Um noch schwächere Formollösungen zu untersuchen, fertigte ich mir solche von 1 pro mille, 2,5 pro mille und 5 pro mille Formol an und brachte die Häute und Sporenfäden hinein, nahm sie nach verschiedener Zeit wieder heraus, spülte sie in Ammoniak und sterilisirtem Wasser ab und brachte sie dann auf Nährböden.

Nach 24 Stunden nahm ich die ersten Hautstücke und Sporenfäden heraus und brachte sie in Bouillon.

Nach 24 stündiger Beobachtungsdauer war die Bouillon, in welche Hautstücke und Sporenfäden aus der 5 %oo igen Formollösung gebracht worden waren, steril geblieben, desgleichen die Bouillon, in welche Hautstücke der trockenen Haut und Sporenfäden aus den 2,5 %oo igen Formollösungen gelegt waren, steril war ferner die Bouillon in welche Stücke der Salzhaut aus der 1 %oo igen Formollösung gelegen; dagegen war die Bouillon, in welcher Hautstücke von der in 2,5 %oo igen und 1 %oo igen Formollösungen gelegenen Salzhaut und von der in 1 %oo iger Formollösung gelegenen trockenen Haut getrübt. Ich fertigte von jeder getrübten Bouillon mikroskopische Präparate an und es zeigten sich ganz vereinzelte Bakterien Ich goss nun von

jeder Bouillon eine Öse auf Agarplatten und brachte sie in den Brutschrank. Nach 24 Stunden waren auf dem Ausstrich von der trockenen Haut, die in 1 %oiger Formollösung gelegen, sporentragende Stäbchen gewachsen, auf den beiden anderen Ausstrichen hingegen nichts. Die Milzbrandsporen aus der 1 %oigen Formollösung zeigten nach 24 Stunden Wachstum, dagegen die aus der 2,5 %oigen und 5 %oigen nicht.

Die Befunde, die sich nach 24 stündiger Beobachtungsdauer ergeben hatten, waren nach 2 und 3 Tagen dieselben geblieben.

Nach 2 Tagen nahm ich wieder Hautstücke und Sporenfäden aus den verschiedenen Formollösungen heraus und brachte sie diesmal auf Agarplatten. Sowohl bei den Hautstücken, die ich 3 Tage als auch bei den Milzbrandsporen, die ich sogar 4 Tage, um ganz sicher zu sein, beobachtete, konnte ich kein Wachstum bemerken, weder bei denen die in der 1 %oigen, 2,5 %oigen noch 5 %oigen Formollösung gelegen. Ich setzte meine Versuche noch 2 weitere Tage mit demselben Ergebnis fort.

Es ergibt sich hieraus das Resultat, dass in 5 %oigen und 2,5 %oigen Formollösungen sowohl eine Sterilisation der Häute, wie auch eine Abtötung der Milzbrandsporen stattfindet. In 1 %oigen Lösungen wurde ein Teil der Häute schon nach 24 Stunden, die übrigen nach 48 Stunden steril.

Die Milzbrandsporen wurden noch nicht nach 24 Stunden, dagegen sicher nach 48 Stunden in 1 %oigen Lösungen abgetötet.

Dieses Resultat stimmt mit den in der Literatur niedergelegten Angaben über die milzbrandsporentötende Wirkung der Formaldehydlösungen nicht vollständig überein.

Stahl fand, dass Milzbrandsporen an Seidenfäden angetrocknet durch eine wässerige Formalinlösung von 2 % in einer Viertelstunde, durch eine solche von 1 pro mille in 1 Stunde getötet wurden.

Blum berichtet, dass von 2 %igen und 5 %igen Formollösungen der Bazillus der Hühnercholera noch nicht nach 24 Minuten, sicher nach 24 Stunden, der Proteus capsulatus nach 25 Minuten, der Staphylokokkus pyogenes aureus nach 35 Minuten, Bakterium typhi nach 5 Minuten abgetötet werden. Sporenhaltige Milzbrandbouillon, 3 Wochen alt, wird durch 2—5 %iges Formalin nach 24 Stunden sterilisirt; an Fäden angetrocknete Milzbrandsporen werden nach 9 Tagen, dagegen noch nicht nach 25 Minuten abgetötet.

Nach Ascoli tötet 10 %ige Lösung Cholerabazillen in 3 Minuten, Milzbrandsporen in weniger als 5 Stunden; 5 %ige Lösungen töten Cholerabazillen in 3 Minuten, Diphtheriebazillen in 10 Minuten, Milzbrandbazillen in 15 Minuten, Staphylokokken in 30 Minuten, Milzbrandsporen in 5 Stunden. Unsere Milzbrandsporen wurden also in kürzerer Zeit abgetötet als in den Versuchen von Ascoli; nämlich bei Anwendung einer 2, 1, 1/2 und 1/4 %igen Lösung war übereinstimmend nach 24 Stunden kein Wachstum mehr zu konstatiren, bei einer 1 %o igen Lösung erst nach 48 Stunden.

Aus meinen Versuchen, die mit den Ergebnissen von Herrn Professor *Lehmann*, soweit derselbe ähnliche Experimente angestellt hat, sich vollkommen decken, ergeben sich etwa folgende Schlüsse:

1. Es ist leider nicht erlaubt, anzunehmen, dass in einem bestimmten Momente des Weichprozesses alle alten Sporen sicher ausgekeimt sind, ohne dass neue gebildet wurden. Es sind also die verschiedenen Manipulationen, denen die Häute unterworfen werden, auf ihre sporentötende, nicht ihre bazillentötende Wirkung zu untersuchen.

2. Weder Ätzkalklösungen, noch Kalkescher töten in der Zeit, während der sie praktisch beim Gerbereiprozess einwirken, — 3, 4, 5 Tage — Milzbrandsporen. Sowohl Herr Professor *Lehmann* wie ich, haben gefunden, dass man bei sehr widerstandsfähigen Sporen bis zu 12 und 17 Tagen warten muss, — in 2 Versuchen hat Herr Professor *Lehmann*, was er mir hier mitzuteilen gestattet, schon nach 5 und 6 Tagen Abtötung gefunden — um eine sichere Abtötung der Milzbrandsporen zu erzielen.

Die Quebracho-Brühe hat in kurzer Zeit keinen Einfluss auf die Sporen; ich setzte die Versuche bis zu 12 Tagen fort, immer wieder zeigte sich auf den Nährböden neues Wachstum von Milzbrand.

4. Eine Abtötung von Milzbrandsporen kann leicht durch schwache Formollösungen erreicht werden. Schon in 1 $^0/_{00}$iger Formollösung war nach 48 Stunden Abtötung der Milzbrandsporen erreicht.

Natürlich berechtigen meine Versuche noch nicht, die Verwendung des Formols zum Sterilisiren von Häuten zu empfehlen, 1 ‰ ige Formollösungen wären wahrscheinlich zu teuer, jedenfalls wäre festzustellen, ob nicht schwächere Lösungen auch noch genügen und vor allem natürlich die Qualität des Leders durch eine solche Vorbehandlung nicht leidet.

Am Schlusse erübrigt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. K. B. *Lehmann* für die Anregung zur vorliegenden Arbeit, sowie die ständige Unterstützung dabei und für die gütige Übernahme des Referates, sowie Herrn Dr. *Kisskalt* für die überaus liebenswürdige Beihilfe bei der Ausführung derselben meinen ergebenen Dank auszusprechen.

Litteratur.

Stahl, citirt bei Lehmann: Münchener medicinische Wochenschrift 1893, Seite 597.

Blum, Münchener medicinische Wochenschrift 1893, Seite 601.

Ascoli, Centralblatt für Bakteriologie, Band 17, Seite 849.

Lebenslauf.

Ich, Hermann Kessler, bayerischer Staatsangehöriger, bin geboren am 13. Februar 1876 zu Hessdorf als Sohn des Gutsbesitzers Michael Kessler. Nach Besuch der Volksschule, dann der Gymnasien Nürnberg und Schweinfurt erwarb ich mir im Juli 1896 das Reifezeugnis in Schweinfurt und bezog im Monat Oktober die Universität Würzburg, genügte im ersten Semester meiner Militärpflicht als Einjährig-Freiwilliger im kgl. bayer. 9. Inf. Regt. verblieb dann bis zum Schlusse meines 5. Semesters in Würzburg, bezog dann die Universität Erlangen, woselbst ich zu Beginn meines 6. Semestess die ärztliche Vorprüfung bestand; während meines 7. Semesters studierte ich in Berlin, kehrte im 8. Semester wieder nach Würzburg zurück und wurde am 6. Februar 1902 in Würzburg als Arzt approbiert. Seit 10. Februar bin ich Einjährig-Freiwilliger Arzt im königlichen bayerischen 2. Feld-Artillerie-Regiment in Würzburg. Vorstehende Dissertation habe ich unter der Leitung des Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann verfasst.